

## PROCESSO DE REPARAÇÃO EM FERIDAS DE EXTRACÇÃO DENTÁRIA, APÓS IMPLANTE DE FRAGMENTOS DE COLAGÉNIO MICROCRISTALINO. ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS.

Ennes Macari de Abreu\*

**RESUMO:** O autor estudou histologicamente o processo de reparação em feridas de extracção dentária, em ratos cujos alvéolos foram preenchidos com fragmentos de colagénio microcristalino. Foram utilizados 36 ratos (*Rattus Norvegicus*, variedade *albinus*, linhagem Wistar), jovens, machos, com peso variando entre 90 a 110 gramas, e separados ao acaso em 2 grupos de 18 animais cada, constituindo um grupo controle e um grupo experimental.

Os animais de ambos os grupos foram anestesiados através de injeção de hidrato de cloral na dosagem de 3 ml por Kg de peso corporal, e submetidos a exodontia do incisivo superior direito. Os alvéolos foram suturados após o preenchimento pelo coágulo sanguíneo, nos animais do grupo controle. Nos alvéolos dos animais do grupo experimental foram colocados fragmentos de colagénio microcristalino, imediatamente após as extracções e suturados posteriormente. Os animais de ambos os grupos, em número de 3 para cada período, foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico, aos 1, 3, 6, 14, 21 e 24 dias pós-operatórios. Através da análise histológica, com base na metodologia utilizada, conclui-se que o colagénio microcristalino introduzido no alvéolo após extracção:

- 1) provoca evidente reacção inflamatória, nas fases iniciais do processo de reparação alveolar.
- 2) o colagénio microcristalino é biodegradável no período compreendido entre o 6.<sup>o</sup> e o 14.<sup>o</sup> dia pós-operatório.
- 3) retarda o processo de reparação alveolar.

**Palavras-chave:** Reparação Alveolar. Colagénio Microcristalino. Cirurgia

### INTRODUÇÃO

A perda parcial ou total de dentes em seres humanos, ocorre com grande frequência. Tal fenómeno tem despertado o interesse dos autores, em estudar o processo de reparação alveolar pós-

-extracção tanto em condições de normalidade como em circunstâncias consideradas anormais. Alguns autores têm estudado este assunto, através de material obtido de seres humanos (3, 4, 6, 8, 14 e 20). Entretanto, por razões óbvias, grande parte deste material tem sido obtido de necrópsias, e consequentemente, os resultados são de valor limitado. Em vista disto, investigações desta natureza, tem sido desenvolvidas experimentalmente em animais de laboratório.

Na literatura especializada, encontram-se vários estudos acerca da reparação alveolar pós-extracção, utilizando-se animais de laboratório, (1, 5, 7, 11,

\* Professor Titular da Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial do Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba — UNICAMP

Recebido para publicação em 13/03/90.

12, 17, 18, 21 e 22). O processo de reparação alveolar tem sido estudado sob vários aspectos, inclusive na presença de substâncias intra-alveolares, colocadas imediatamente após as exodontias, (2, 10, 13 e 23). Esses autores demonstraram através destes trabalhos que as substâncias empregadas nestes estudos, retardam em vários graus, a reparação alveolar pós-extração.

Em ratos, vários autores estudaram a influência de substâncias colocadas no interior dos alvéolos pós-extração, como osso anorgânico (15), poliuretano (17), gesso paris (24) e colágeno microcristalino (19).

RULLI e cols <sup>(19)</sup> baseados nas condições de metodologia utilizada, chegaram as seguintes conclusões:

O colágeno microcristalino introduzido no interior do alvéolo pós-extração:

- 1 — Não provoca reacção inflamatória tipo corpo estranho,
- 2 — É biodegradável entre o 7.º e 8.º dias pós-operatórios,
- 3 — Não altera o tempo necessário para o término do processo de reparação alveolar.

Com base na presente revisão bibliográfica, julgamos válido estudar o efeito do colágeno microcristalino no processo de reparação em feridas de extração dental em ratos.

## PROPOSIÇÃO

Três motivos principais nos levaram à realização da presente pesquisa:

- 1 — O colágeno em implante sub-cutâneo, favorece o processo de reparação deste tecido; a textura da esponja actua como matriz para o tecido conjuntivo neo-formado.
- 2 — Em determinadas circunstâncias é desejável estimular a osteogênese em alvéolos pós-extração; principalmente quando há necessidade de reconstrução das cristas ósseas alveolares.
- 3 — O efeito do colágeno microcristalino ainda não foi suficientemente estudado em alvéolos, pós-extração.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 36 ratos (*Rattus Norvegicus*,

variedade albinus, linhagem Wistar), jovens, machos, com peso entre 90 e 110 gramas.

Os animais foram mantidos sob dieta padronizada e água "ad libitum" antes e durante o período experimental, com excepção das primeiras 24 horas de pós-operatório, quando a alimentação sólida foi suspensa.

Os ratos foram divididos em 2 grupos de 18 animais cada e receberam anestesia geral através de injeção de hidrato de cloral a 10% na dosagem de 3 ml por Kg de peso. Em seguida, foram extraídos os incisivos superiores direitos, através de sindesmótomo e fórceps adaptados para este fim (OKAMOTO <sup>16</sup>).

Os alvéolos dos incisivos superiores direitos dos animais do grupo I (contrôle), foram somente suturados com fio de seda 4-0 após o preenchimento pelo coágulo sanguíneo e serviram de alvéolos contrôle.

Os alvéolos dos animais do grupo II, imediatamente após as extrações, foram preenchidos com fragmentos de colágeno microcristalino, suturados com fio de seda 4-0 e serviram de alvéolos experimentais.

Os animais de ambos os grupos, foram sacrificados por inalação de éter sulfúrico aos 01, 03, 06, 14, 21 e 24 dias após as exodontias, em número de 3 animais por período.

Imediatamente após o sacrifício realizou-se a secção frontal aproximadamente entre os terços médio e posterior da cabeça de cada animal, de ambos os grupos, com tesoura romba, isolando-se uma peça na qual estavam incluídas as maxilas. A seguir procedeu-se nova secção ao nível da linha média de cada peça obtendo-se a parte que continha os alvéolos tanto experimentais como contrôle, juntamente com estruturas anexas.

Após a remoção dos excessos de tecidos moles, as peças contendo os alvéolos contrôle e experimentais, foram fixadas em Bowin por 24 horas, lavadas em água corrente por 15 horas e posteriormente descalcificadas.

A descalcificação foi realizada através de tratamento com solução de ácido tricloroacético 5% por 4 dias; a seguir cada peça foi lavada em água corrente por 12 horas, desidratada em alcoóis, diafanizada em xilol e incluída em parafina a vácuo, por 15 minutos, e a seguir foi colocada em estufa sob pressão ambiente durante 60 minutos.

Depois, foram realizados cortes longitudinais semi-seriados com 6 micras de espessura e coradas

em H.E. e tricrômico de Mallory e impregnação à prata.

## RESULTADOS

Para facilitar a descrição, o alvéolo dentario será dividido em três terços: cervical, médio e apical, a partir da margem livre do alvéolo ao fundus alveolar.

### Alvéolo Experimental — 1 dia Pós-Operatório

Observa-se que o terço cervical está inteiramente preenchido pelo colágeno microcristalino, circundado por uma faixa de neutrófilos, principalmente a sua porção inferior.

Observa-se outrossim que o terço médio encontra-se preenchido apenas pelo coágulo sanguíneo.

No terço apical nota-se ao nível do fundus alveolar, discreta proliferação fibroblástica, a partir dos remanescentes do ligamento periodontal.



Fig. 1 — Alvéolo tratado de 1 dia.  
Observa-se a presença de colágeno microcristalino ocupando todo o terço cervical (HE — 25X).

### Alvéolo Contrôle — 1 dia Pós-Operatório

Os terços alveolares dos animais contrôles nada apresentaram de diferente, com relação às descrições clássicas citadas na literatura, para o processo de reparo alveolar, em condições de normalidade, ao 1.º dia pós-operatório.

### Alvéolo Experimental — 3 dias de Pós-Operatório.

Observa-se que o colágeno microcristalino ocupa todo o terço cervical, circundado por intenso infiltrado neutrofilico. Nesta fase observa-se no terço médio que o coágulo está sendo substituído progressivamente por tecido de granulação, e observa-se em todo terço apical, intensa proliferação fibroblástica.



Fig. 2 — Alvéolo tratado de 3 dias.  
Observa-se colágeno microcristalino ocupando o terço cervical, já com característica bem menos compacta em relação aos animais tratados de 1 dia (HE — 63X).



Fig. 3 — Alvéolo tratado de 3 dias.  
No terço médio observa-se que o coágulo está sendo substituído progressivamente por tecido de granulação. (HE — 63X).

### Alvéolo Contrô — 3 dias de Pós-Operatório.

Os terços alveolares dos animais contrôles, apresentaram as mesmas características, quando comparadas aos alvéolos contrôles descritos na literatura, para o período de 3 dias pós-operatório no rato, em condições de normalidade.



Fig. 4 — Alvéolo tratado de 3 dias.  
Observa-se em todo terço apical intensa proliferação fibroblástica. (HE — 63X).

### Alvéolo Experimental — 6 dias de Pós-Operatório.

Observa-se o material implantado apenas ao nível do terço cervical, porém menos compacto e invadido por infiltrado neutrofílico bem mais acentuado que nos períodos anteriores.

No terço médio observa-se acentuada proliferação fibroblástica, discreta proliferação vascular e remanescentes do coágulo sanguíneo na parte central, desta área.

No terço apical observa-se trabéculas ósseas neoformadas, circundadas por osteoblastos, sendo que na parte superior deste terço, nota-se a presença de proliferação fibroblástica, vascular, e tecido conjuntivo neoformado.

### Alvéolo Contrô — 6 dias de Pós-Operatório.

Nos alvéolos controles, nesta fase, observa-se em alguns cortes poucos neutrófilos, próximo à



Fig. 5 — Alvéolo tratado de 6 dias.  
Presença de colágeno microcristalino implantado ao nível do terço cervical, invadido por infiltrado neutrofílico (HE — 63X).



Fig. 6 — Alvéolo tratado de 6 dias.  
No terço médio observa-se proliferação fibroblástica e remanescente do coágulo na sua porção central (HE — 25X).

crista do rebordo alveolar. Pode-se observar outros numerosos e densos feixes de colágeno e numerosas fibras argirófilas, sendo incorporadas por novas trabéculas ósseas. Também podemos observar intensa neoformação óssea no terço apical, principalmente próximo às paredes corticais.

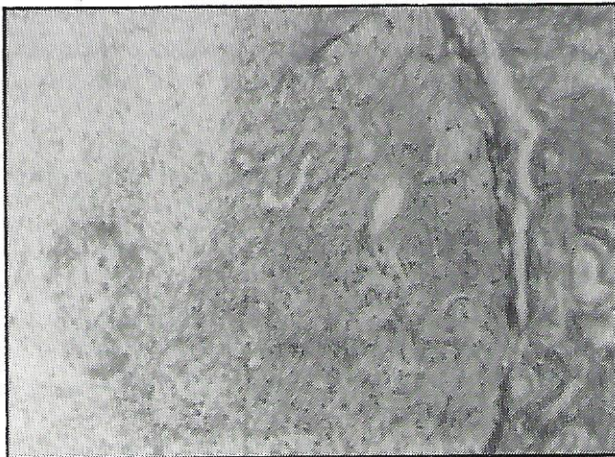


Fig. 7 — Alvéolo tratado de 6 dias.

No terço apical observa-se trabéculas ósseas neoformadas, circundadas por osteoblastos, sendo que na parte superior, nota-se área de proliferação fibroblástica (HE — 63X).

#### Alvéolo Experimental — 14 dias de Pós-Operatório.

Nesta fase, não se observa a presença de colágeno microcristalino, ao nível do terço cervical. Neste terço observa-se apenas discreto infiltrado neutrofilico, apresentando-se menos evidente na sua porção inferior.

Na porção superior do terço médio, nota-se tecido ósseo imaturo, em cuja malha encontra-se



Fig. 8 — Alvéolo tratado de 14 dias.

No terço médio observa-se a presença de tecido ósseo neoformado imaturo e em cuja malha encontra-se esparsamente tecido conjuntivo fibroso (HE — 63X).

esparsamente, tecido conjuntivo fibroso. Na parte inferior deste terço, observam-se trabéculas ósseas com espaços intertrabeculares menores.

O terço apical encontra-se totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado.

#### Alvéolo Contrôlo — 14 dias de Pós-Operatório

Nos alvéolos contrôles, nota-se intensa neoformação óssea e melhor organização das trabéculas ósseas, principalmente ao nível dos terços apical e médio.

#### Alvéolo Experimental — 21 dias de Pós-Operatório.

Nos terços cervical e médio, observa-se áreas de trabéculas ósseas. Na porção central do terço médio entretanto, ainda observam-se pequenos espaços medulares.

O terço apical encontra-se totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado.



Fig. 9 — Alvéolo tratado de 21 dias.

No terço médio, observa-se áreas de trabéculas ósseas, porém, observa-se ainda, espaços de tecido conjuntivo fibroso (HE — 25X).

#### Alvéolo Contrôlo — 21 dias de Pós-Operatório.

Os alvéolos contrôles de 21 dias de pós-operatório apresentaram-se completamente preenchidos por tecido ósseo neoformado.

### Alvéolo Experimental — 24 dias de Pós-Operatório.

Tanto os alvéolos experimentais como os alvéolos contrôles, nesta fase, apresentaram-se completamente reparados por tecido ósseo neoformado.

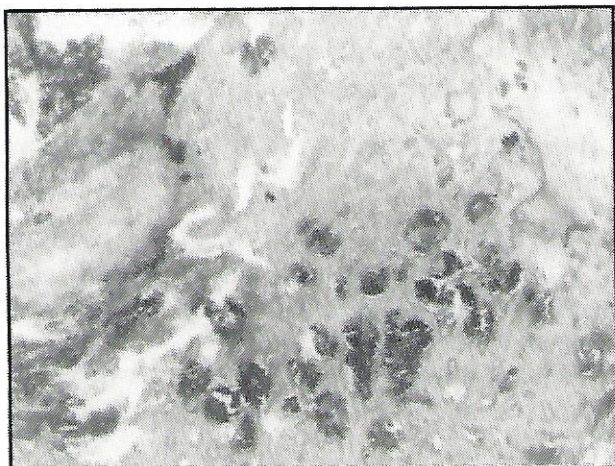


Fig. 10 — Alvéolo tratado de 24 dias.  
No terço cervical observa-se a presença de tecido ósseo neoformado (HE — 63X).

### DISCUSSÃO

Os períodos de 1, 3, 6, 14, 21 e 24 dias de pós-operatório, pré-estabelecidos em nosso trabalho, prendem-se ao facto de que são fases características do processo de reparação em ratos, e já utilizadas por vários autores (15, 17 e 19).

O período de 24 dias, incluímos com o objectivo de detectar eventual atraso na cronologia do processo de reparação alveolar, pós-extracção, dos animais experimentais.

Os resultados por nós verificados nos alvéolos dos animais contrôles, não divergiram dos resultados verificados por outros autores em nenhum dos períodos estudados (15, 17 18 e 19).

Com relação ao colágeno microcristalino observamos a sua permanência no alvéolo bem evidente até o 6.º dia pós-operatório, o que foi observado também por RULLI e cols. (19). Esses autores relataram que o colágeno, nesta fase, exibia as mesmas características observadas nas fases estudadas anteriormente de 1 e 3 dias pós-operatórios. No presente trabalho, observamos

que aos 6 dias pós-operatórios o material implantado apresentava-se menos compacto e inclusive invadido por infiltrado neutrofilico bem mais intenso, que os infiltrados neutrofilicos observados aos 1 e 3 dias de pós-operatório. Nos alvéolos contrôles de 6 dias pós-operatórios, observamos infiltrado neutrofilico discreto e apenas próximo à crista alveolar, o que também foi observado por OKAMOTO & RUSSO (18).

Cabe salientar que aos 6 dias de pós-operatório, a maior parte dos cortes revelaram, principalmente ao nível do terço médio, intensa proliferação fibroblástica, discreta proliferação vascular e inclusive remanescentes do coágulo sanguíneo na sua porção central. Já, os alvéolos contrôles, nesta fase pós-operatória, exibiram intensa neoformação óssea nos dois terços alveolares, principalmente a nível das paredes corticais, o que também foi observado por OKAMOTO & RUSSO (18), e que nos leva a crer que os alvéolos experimentais nesta fase não exibiram as características consideradas normais durante a evolução pós-operatória.

Cabe salientar outrossim que o atraso verificado no processo de reparação alveolar, evidenciado nos terços médio e cervical dos alvéolos de 1, 3 e 6 dias, persistem embora de forma mais discreta, inclusive nas fases mais tardias de 14 e 21 dias pós-operatórios.

Nesta pesquisa, observamos a presença do colágeno microcristalino bem evidente aos 6 dias pós-operatórios. Aos 14 dias já não se observava a presença do material implante, e possivelmente a sua degradação ocorreu no período compreendido entre o 6.º e o 14.º dia pós-operatórios, provavelmente por volta do 8.º ou 9.º dia, conforme observado por RULLI e cols (19).

Aos 14 dias de pós-operatório, apesar de não haver indícios de colágeno, observamos, na maioria dos cortes, a presença de tecido ósseo imaturo, em cuja malha encontrava-se esparsamente tecido conjuntivo fibroso, ao nível do terço médio; na porção inferior deste terço observamos trabéculas ósseas com pequenos espaços medulares, contrastando com os alvéolos contrôles, que nesta fase, exibiram intensa neoformação óssea, ao nível dos dois terços alveolares.

Aos 21 dias os alvéolos contrôles apresentaram-se completamente preenchidos por tecido ósseo neoformado, em concordância com vários autores (15, 17, 18, 19 e 24). Os alvéolos experimentais,

nesta fase, apresentaram-se com neoformação óssea evidente apenas nos terços cervical e apical, sendo que na porção central do terço médio, observamos trabéculas ósseas com pequenos espaços medulares.

Os alvéolos experimentais apresentaram-se completamente preenchidos por tecido ósseo neoforado, à semelhança dos alvéolos controle de 21 dias, apenas aos 24 dias de pós-operatório.

## CONCLUSÕES

Com base na metodologia utilizada, parece-nos lícito concluir, que o colágeno microcristalino, introduzido no interior do alvéolo após extracção:

- 1 — provoca evidente reacção inflamatória nas fases iniciais do processo de reparação alveolar, após extracção.
- 2 — o colágeno microcristalino é biodegradável, no período compreendido entre o 6.º e o 14.º dia de pós-operatório.
- 3 — retarda o processo de reparação alveolar pós-extracção.

## SUMMARY

The author studied histologically, the healing process after dental extraction in rats with sockets were filled with fragments of microcrystalline collagen.

Thirty six rats (*Rattus Novergicus, albinus, Wistar*), young, male, weighting from 90 to 110 g and separated into two groups, control and experimental, of eighteen animal each.

All animals were anaesthetized with 10% cloral hydrate, 3ml/Kg body weight and the right maxillary incisors were extracted. In control animal the sockets were sutured after clot filling, and the experimental sockets were sutured after filling with microcrystalline collagen.

Three animals of each group were killed after periods of 1, 3, 6, 14, 21 and 24 days after surgery.

The following conclusions were drawn:

- 1 — Microcrystalline collagen caused an evident inflammatory reaction in the inicial phases of the healing process of the sockets.
- 2 — Microcrystalline collagen was biodegraded 6 to 14 days after surgery.

- 3 — Microcrystalline collagen delayed the repair process of the sockets.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ABREU, E.M. — Reparação Alveolar em Cães — Estudo clínico, radiográfico e histológico em condições normais e sob acção hormonal. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba — UNICAMP, 1970, /TESE DE DOUTORAMENTO/.
- 2 — ABREU, E.M.; VIZIOLI, M.R. & VALDRIGHI, L. — The healing of extraction wounds in the presence of foreign bodies (fragments of silver amalgam of zinc oxide eugenol impression paste). *Rev. Fac. Odont. São José dos Campos*, 3(2): 119-31, 1974.
- 3 — AMLER, M.H.; SALMAN, I. & BUGENER, H. — Reticular and collagen fibers characteristics in human bone healing. *Oral Surg.*, 17: 785-96, 1964.
- 4 — AMLER, M.H. — The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg.*, 27: 309 — 18, 1969.
- 5 — ASTRAND, P & CARLSON, G.E. — Changes in the alveolar process after extraction in the white rat. A histologic and fluorescence microscopic study. *Acta Odont. Scand.*, 27: 113-27, 1969.
- 6 — BOYNE, P.J. — Osseous repair of the post extraction alveolus in man. *Oral Surg.*, 21: 805-11, 1966.
- 7 — CHRISTOFER, E.R. — Histological study of bone healing in relation to the extraction of teeth. *Worth. Univ Bull.*, 43: 5-11, 1942.
- 8 — CLAFLIN, R.S. — Healing of disturbed and undisturbed extraction wounds. *J. Amer. Dent. Ass.*, 23: 945 — 59, 1936.
- 9 — EULER, H. — Die heilung von extraktion wunden; eine tierexperimentelle studie. *Dt. Mschr. Zahnheilk.*, 41: 687, 1923.
- 10 — GILBERTSON, B.A. & CLARK, H.B. — Effect of osteogen in extraction sockets of rats. *J. Dent. Res.*, 38: 697, 1959.
- 11 — HARRISON, J.A. — Healing of routine and of severely traumatized exodontic wounds. *Bur.*, 43: 107-15, 1943.
- 12 — HUEBSCH, R.F.; COLEMAN, R.D. FRANDSON, M.M. & BECKS, H. — The healing process following molar extractions. *Oral Surg.*, 5B: 864-76, 1952.
- 13 — HUEBSCH, R.F. & HANSEN, L.S. — A histopathologic study of extraction wounds in dogs. *Oral Surg.*, 28: 187-96, 1969.
- 14 — MANGOS, J.F. — The healing of extraction wounds. *N. Z. Dent. J. Ital. Sper.*, 37: 4, 1941.
- 15 — MARQUES-MIGUEL, R.; SANCHEZ, M.O. & SANTOS-PINTO, M. C. — Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de osso anorgânico. Contribuição ao estudo radiográfico em ratos. *Rev. Ass. Paul Cirurg. Dent.*, 27: 88-93, 1973.

PROCESSO DE REPARAÇÃO EM FERIDAS DE EXTRACÇÃO DENTARIA, APÓS IMPLANTE DE FRAGMENTOS DE COLAGÉNIO MICROCRISTALINO. ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS.

- 16 — OKAMOTO, T. — *Reimplante de incisivos de ratos após ressecção da papila dental e órgão do esmalte — Estudo histológico.* Araçatuba. Fac. Odontologia de Araçatuba. Fac. Odontologia de Araçatuba — UNESP, 1973. /TESE/.
- 17 — OKAMOTO, T.; CARVALHO, A.C.P.; MILANEZI, L.A.; HOLLAND, R. & RUSSO, M.C. — Implante de poliuretano em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2: 19-25, 1937.
- 18 — OKAMOTO, T. & RUSSO, M.C. — Wound healing following tooth extraction — Histochemical study in rats. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2(2): 153-68, 1973.
- 19 — RULLI, M.A.; TARELHO, Z.V.S. & MATHEUS, M.T.G. — Efeito do colágeno microcristalino no processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. *Rev. Odont. Unesp.*, 13(1/2): 5-11, 1984.
- 20 — SCHRAM, W.A. — Histologic study of repair in maxillary bones following surgery. *J. Am. Dent. Ass.*, 16: 1987-97, 1929.
- 21 — SIMPSON, H.E. — The healing of extractions wounds *Brit. Dent. J.*, 104: 99-100, 1958. Apud, SIMPSON, H. E. — Experimental investigation into the healing of extraction wounds in Macacus rhesus monkeys. *J. Oral Surg. Anesth.*, 18: 391-99, 1960.
- 22 — SMITH, R.L. — The role of epithelium in the healing of experimental extraction wounds. *J. Dent. Res.*, 37: 187-94, 1958.
- 23 — VERSNEL, J.C. — Healing of extraction wounds after introduction of hemostatics and antibiotics. *J. Am. Dent. Res.*, 46: 146-53, 1953.
- 24 — VICTOR, J.O.; SANTOS-PINTO, R.; OKAMOTO, T. & CASTRO, A. L. — Implante de gesso de Paris em alvéolos dentais. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 4: 71-79, 1975.

### AGRADECIMENTOS

O autor agradece a gentileza do Prof. Benedito de Campos Vidal, do Instituto de Biologia da UNICAMP, pelo fornecimento do colágeno microcristalino "MICROLÁGENEO" (CIRUMÉDICA).